

การประเมินประสิทธิภาพเครื่องเพาะเชื้อจากเลือดระบบอัตโนมัติ RENDER

วรพล เจริญวงศ์ศิริ¹, อัญชลี เตชะเสน², พัทธราภรณ์ ทิพย์วัฒน์², อรุณวดี ชนะวงศ์², อรุณลักษณ์ ลุติตานนท์^{2*}

Received: September 5, 2019

Revised: November 7, 2019

Accepted: November 28, 2019

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ RENDER (Zhuhai Meihua Medical Technology Limited, Zhuhai, China) โดยศึกษาเวลาที่เครื่องแสดงการตรวจพบเชื้อเมื่อทดสอบด้วยเชื้อตั้งต้นปริมาณน้อยๆ และทดสอบประสิทธิภาพของขวดเพาะเชื้อจากเลือดที่มีส่วนผสมของ resin ทำหน้าที่ดูดซับยาหรือสารที่อาจเป็นพิษต่อแบคทีเรียจากเลือดผู้ป่วย โดยทำการศึกษาเชื้อแบคทีเรีย 8 ชนิดที่พบบ่อยในการติดเชื้อในกระแสเลือด ได้แก่ *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *viridians Streptococcus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia pseudomallei* และยีสต์ 1 ชนิดคือ *Candida albicans* ใช้ปริมาณเชื้อแต่ละชนิดแตกต่างกัน 2 ขนาดคือ ประมาณ 100 และ 10 colony forming unit (CFU) ฉีดลงในขวดแล้วนำเข้าเครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ RENDER และศึกษาเปรียบเทียบผลการเพาะเชื้อในสถานะที่มียาและไม่มียา ceftriaxone (CRO), ceftazidime (CAZ) และ ofloxacin (OFX) กับเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน 3 ชนิดคือ *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ซึ่งทราบค่า MIC ต่อยาทั้งสามชนิด โดยใส่ยาในขวดให้มีความเข้มข้นเท่ากับค่า MIC ของเชื้อที่ทดสอบ ผลการศึกษาพบว่า เครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัตินี้ สามารถตรวจพบการเจริญของเชื้อได้แม้มีเชื้อตั้งต้นปริมาณน้อยคือประมาณ 100-700 CFU โดยพบการเจริญของ *E. coli* ได้เร็วที่สุด (11 ชั่วโมง) และพบการเจริญของ *H. influenzae* ช้าที่สุด (48 ชั่วโมง) ส่วนขวดที่ผสมยาพบว่า *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 และ *S. aureus* ATCC 29213 ในปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ 100-1000 CFU ในขวดที่ไม่มียา/มียา CRO ให้ผลบวกในเวลา 9/9, 16/17, 11/11 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขวดที่ไม่มียา/มียา OFX พบว่าให้ผลบวกในเวลา 9/9, 16/16, 11/13 ชั่วโมง ตามลำดับ และขวดที่ไม่มียา/มียา CAZ ให้ผลบวกในเวลาที่แตกต่างกันมากคือ 9/66, 16/30, 11/27 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งอาจเกิดจาก resin ดูดซับยา CAZ ได้ไม่สมบูรณ์ เชื้อจึงใช้เวลาในการเจริญนานขึ้น จากผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงว่า resin ในขวดสามารถดูดซับยาที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ การศึกษานี้ทำให้ทราบข้อมูลเบื้องต้น ถึงประสิทธิภาพของเครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติระบบ RENDER และประสิทธิภาพการดูดซับยาของ resin ในขวด เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการนำไปใช้งานในห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลต่างๆ เพื่อช่วยเพาะเชื้อให้ได้ผลรวดเร็ว และเพิ่มโอกาสในการได้รับการรักษาที่ดีแก่ผู้ป่วย

คำสำคัญ: การเพาะเชื้อจากเลือด, เครื่องเพาะเชื้ออัตโนมัติ, การติดเชื้อในกระแสเลือด

¹ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Evaluation of the effectiveness of the RENDER automatic blood culture system

Worrapon Charoenwongkhiri¹, Anchalee Techasen², Patcharaporn Tippayawat²,
Aroonwadee Chanawong², Aroonlug Lulitanond^{2*}

Abstract

This study aimed to evaluate the effectiveness of RENDER system (Zhuhai Meihua Medical Technology Limited, Zhuhai, China), an automatic hemoculture system by determining the time to detection (TTD) when using certain amount of bacterial inoculum, and testing the effectiveness of resin in the presence of antimicrobial agents. A total of 8 species of bacteria which are frequently isolated from blood including: *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, viridians *Streptococcus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia pseudomallei* and one strain of *Candida albicans* were studied. Each of the 2 inoculum sizes, approximately 100 and 10 colony forming unit (CFU), was injected into the culture bottles before incubated in the automatic system. In addition, bottles with and without ceftriaxone (CRO), ceftazidime (CAZ) and ofloxacin (OFX) were inoculated with 100-1000 CFU of *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. The results showed that RENDER system detected bacterial growth with small inoculum sizes as 100-700 CFU. Among the bacteria tested, *E. coli* gave the shortest time to positive (11 hrs), whereas *H. influenzae* showed sign of positive lastly (48 hrs). The culture bottles of *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *S. aureus* ATCC 29213 (with 5000, 700 and 3000 CFU inoculum, respectively) demonstrated the sign of growth under without/with CRO at 9/9, 16/17 and 11/11 hrs respectively; under without/with OFX at 9/9, 16/16 and 11/13 hrs respectively; and under without/with CAZ at 9/66, 16/30 and 11/27 hrs respectively. The delayed growth under the presence of CAZ may be due to the incomplete absorption of the resin combining with the highly sensitive property of the bacteria to CAZ. This study provided primary information of the effectiveness of RENDER automatic system for hemoculture and the efficacy of resin to absorb three antimicrobials. This information will be useful for considered using automatic culture system for blood culture which helps shorten the time to report the results and support the appropriate treatment for patients.

Keywords: Bacteremic, Hemoculture, Automate culture

¹Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

²Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

*Corresponding author: (e-mail: arolul@kku.ac.th)

บทนำ

การติดเชื้อในกระแสเลือดเป็นภาวะฉุกเฉินที่ต้องรีบทำการรักษา การวินิจฉัยเชื้อที่รวดเร็วช่วยให้การรักษาที่เหมาะสมและทันเวลา เนื่องจากเป็นภาวะที่ทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการรักษามากขึ้น และผู้ป่วยมีความเสี่ยงต่อการเสียชีวิตหรือพิการ^(1, 2) โดยทั่วไปแพทย์วินิจฉัยจากอาการของผู้ป่วย ร่วมกับการเจาะเลือดเพื่อเพาะหาเชื้อสาเหตุ การเพาะเชื้อจากเลือดเป็นวิธีวินิจฉัยที่สำคัญที่สุด แต่ส่วนใหญ่ใช้เวลาประมาณ 3-7 วัน แพทย์จึงต้องเลือกให้ยาต้านจุลชีพที่ครอบคลุมเชื้อที่คาดว่าจะสาเหตุไว้ก่อน เมื่อทราบผลการเพาะเชื้อ จึงปรับยาให้เหมาะสมกับเชื้อ ดังนั้นการทราบผลการเพาะเชื้อที่รวดเร็ว จึงช่วยเพิ่มโอกาสในการรอดชีวิตแก่ผู้ป่วย แม้ปัจจุบันมีการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยเทคนิคทางโมเลกุลมากขึ้น⁽³⁾ แต่การเพาะเชื้อยังมีความจำเป็นและยังเป็นวิธีมาตรฐาน⁽⁴⁾ ซึ่งโรงพยาบาลส่วนใหญ่มีการใช้เครื่องระบบอัตโนมัติสำหรับตรวจการเจริญของเชื้อในขวดเพาะเชื้อจากเลือด ช่วยให้ทราบผลได้เร็วขึ้น โดยเครื่องอัตโนมัติสำหรับเพาะเชื้อจากเลือดมีหลายบริษัทที่มีการใช้อย่างกว้างขวางทั่วโลก ได้แก่ BACTEC (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA) ซึ่งผลิตตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 อาศัยหลักการตรวจวัดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ โดยการติดฉลากคาร์บอน 14 ในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ มี fluorescent sensor เป็นตัวตรวจจับการเพิ่มขึ้นของ CO_2 , BacT/Alert (bioMérieux, Durham, NC, USA) ซึ่งพัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 1990 ใช้หลักการตรวจวัดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ทำให้สีของตัวตรวจจับเปลี่ยนแปลง สังเกตได้จากสีที่ก้นขวด มี sensor ตรวจจับการเปลี่ยนแปลงที่ก้นขวด และ VersaTrek (Thermo Scientific) ใช้หลักการตรวจวัดก๊าซทุกชนิดที่เกิดขึ้น หรือที่ถูกใช้ไป โดยเฉพาะก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยตัวตรวจจับการเปลี่ยนแปลง^(5, 6) ขวดที่ใช้เพาะเชื้อจากเลือดแต่ละระบบมีหลายชนิดแตกต่างกัน แต่ที่คล้ายกันคือ ส่วนใหญ่มีสาร resin หรือคาร์บอน ช่วยดูดซับยาด้านจุลชีพ หรือสารที่อาจมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ ระบบเพาะเชื้อจากเลือดเหล่านี้จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการเพาะเชื้อจากเลือด ช่วยเพิ่มโอกาสในการตรวจพบเชื้อ และทำให้ตรวจพบเชื้อ

ได้เร็วขึ้น^(7, 8, 9) มีการศึกษาประสิทธิภาพของเรซินที่ใส่ในขวดเพาะเชื้อจากเลือด ช่วยลดฤทธิ์ของยาด้านจุลชีพชนิดที่ใช้บ่อยลงได้ร้อยละ 80-90 ในเวลา 2 ชั่วโมง⁽¹⁰⁾

เครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ RENDER (Zhuhai Meihua Medical Technology Limited, Zhuhai, China) เป็นเครื่องที่มีการนำเข้ามาใช้ในประเทศไทยเมื่อไม่นาน อาศัยหลักการตรวจการเพิ่มขึ้นของ CO_2 ขณะที่แบคทีเรียมีการเจริญเติบโต มี sensor สำหรับตรวจจับการเปลี่ยนแปลงของสีที่ก้นขวด และส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อมีสารดูดซับยาด้านจุลชีพ ระบบตรวจวัดการเจริญของเชื้อในเครื่อง ซึ่งสามารถดูผลจากหน้าจอของเครื่องได้ หลังจากใส่สิ่งส่งตรวจลงในขวดเพาะเชื้อแล้วนำเข้าเครื่อง ภายในเครื่องมีระบบการพลิกขวดกลับไปมาตลอดเวลาขณะที่ตู้ปิด และควบคุมอุณหภูมิในการเพาะเชื้อที่ 35°C เมื่อเชื้อมีการเจริญเติบโต ขบวนการเมแทบอลิซึมทำให้มีการผลิต CO_2 มากขึ้น และเมื่อ CO_2 ทำปฏิกิริยากับ H_2O เกิดเป็น H^+ ซึ่งมีผลทำให้ indicator (Xylenol Blue) มีการเปลี่ยนสี สังเกตได้จากบริเวณก้นขวดเพาะเชื้อ เปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีเหลือง ระบบตรวจวัด (Optical Sensor) ภายในเครื่องมีการตรวจจับและบันทึกผลทุก 10 นาที แล้วประมวลผลแสดงผลการเปลี่ยนแปลงในขวดเพาะเชื้อที่เกิดขึ้นผ่านทางหน้าจอ โดยมีเงื่อนไขการให้ผลบวก (Positive) เมื่อมีค่าแสงมากกว่า 4300 ติดต่อกัน 3 ช่วงเวลา หรือมีการเพิ่มขึ้นของค่าแสงมากกว่า 6 cycles ติดต่อกัน ถ้าไม่เข้าเงื่อนไขทั้ง 2 นี้ เครื่องจะแสดงผลเป็นลบ (negative)

คณะผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ RENDER โดยศึกษาเวลาที่เครื่องแสดงการตรวจพบเชื้อเมื่อทราบปริมาณเชื้อตั้งต้น และศึกษาการเจริญของเชื้อในภาวะที่มีและไม่มียา

วัสดุและวิธีการ

1. แบคทีเรียที่ใช้ศึกษา

แบคทีเรียจำนวน 8 ชนิด ๆ ละ 1 ตัวอย่าง ได้แก่ *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *viridians Streptococcus*, *Listeria*

monocytogenes, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia pseudomallei* และยีสต์ 1 ชนิดคือ *Candida albicans* แบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน ATCC คือ *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *S. aureus* ATCC 27853, 25922, 29213 ตามลำดับ

2. พงยาต้านจุลชีพ

ใช้พงยาต้านจุลชีพ 3 ชนิด คือ ceftazidime (CAZ), ofloxacin (OFX) (Sigma Aldrich, Saint Louis, USA), ceftriaxone (CRO) (สยามฟาร์มา, ประเทศไทย)

3. การทดสอบประสิทธิภาพการเพาะเชื้อด้วยเครื่องอัตโนมัติ RENDER

3.1 การเตรียมเชื้อ

เพาะเลี้ยงเชื้อบน blood agar (ยกเว้น *H. influenzae* เพาะใน chocolate agar และอบในภาชนะที่มี CO₂ ร้อยละ 5-10) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นทำให้โคโลนีของเชื้อแขวนลอยในน้ำเกลือ ปริมาตร 2 mL ปรับให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland (มีจำนวนเชื้อประมาณ 10⁸ CFU/mL) แล้วเจือจางเชื้อเป็น 1 : 10 ในน้ำเกลือ ปริมาตร 4 mL ต่อเนื่อง จนได้จำนวนเชื้อประมาณ 100 และ 10 CFU/mL

3.2 การทดสอบระยะเวลาที่ตรวจพบเชื้อจากขวดด้วยเครื่องอัตโนมัติ

ทดสอบในขวด Aerobic Culture Bottle โดยใช้เชื้อแต่ละชนิด ปริมาณแตกต่างกัน 2 ขนาด คือ จำนวนเชื้อที่ใส่ในขวดประมาณ 100, และ 10 เซลล์ โดยใช้กระบอกฉีดยา ดูดเชื้อจากหลอดที่เจือจาง 1:1,000,000 ปริมาตร 1 mL และจากหลอดที่เจือจาง 1: 10,000,000 ปริมาตร 1 mL ฉีดลงในขวด Aerobic Culture Bottle ที่เขียนกำกับข้างขวดไว้เป็น 100 CFU และ 10 CFU ตามลำดับ นำขวดเข้าอบในตู้อัตโนมัติ และสังเกตสัญญาณเตือนทุกวัน

ตรวจนับจำนวนเชื้อในหลอดที่เจือจางโดยดูดเชื้อจากหลอด 1 : 1,000,000 มา 100 μ L เพาะใน blood agar โดยวิธี spread plate เพื่อนับจำนวนโคโลนี นับจำนวนเชื้อในขวดที่มีสัญญาณบอกการเจริญ โดยเจาะดูดส่วนน้ำจากขวดเพาะเชื้อมาทำเจือจางในน้ำเกลือ แล้วใช้ standard loop ขนาด 10 μ L ตักเชื้อในหลอด 1 : 1,000,000 ปริมาตร 10 μ L เพาะใน blood agar อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีใน 1 mL

3.3 การทดสอบการเจริญของเชื้อในขวดเพาะเชื้อจากเลือดในภาชนะที่มียา

ใช้ขวด Aerobic Culture Bottle ที่ใส่ยาและไม่ใส่ยา CRO, CAZ และ OFX โดยในขวดที่ใส่ยา มีการเติมยาแต่ละชนิดลงในขวด ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับค่ากลางของค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ของเชื้อสายพันธุ์มาตรฐานแต่ละชนิด (11) ดังในตารางที่ 1

เตรียมขวดที่มียาแต่ละความเข้มข้นจำนวน 3 ขวด เตรียมเชื้อและเจือจางเป็น 1 : 1,000,000 ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2 แล้วเติมเชื้อจำนวนประมาณ 100 CFU/mL ในขวดที่มียา และขวดที่ไม่มียา นำขวดเข้าอบในตู้อัตโนมัติ และสังเกตสัญญาณเตือนทุกวัน

ตรวจนับจำนวนเชื้อในหลอดที่เจือจาง ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2

3.4 การตรวจสอบขวดที่ให้ผลลบ

ขวดเพาะเชื้อที่ไม่มีสัญญาณเตือนจากเครื่อง เมื่ออบครบ 7 วัน (สามารถตั้งค่าจำนวนวันให้ระบบอบขวดไว้ได้นานตามที่ต้องการ) นำขวดออกจากเครื่อง และเพาะลงใน blood agar อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-72 ชั่วโมง สังเกตจานเพาะเชื้อทุกวัน จนครบ 3 วันเพื่อตรวจว่าไม่มีเชื้ออยู่ในขวด

ตารางที่ 1 ค่า MIC ของเชื้อสายพันธุ์มาตรฐานต่อยาที่ใช้ในการศึกษา

organism	ค่า MIC ที่ใช้ทดสอบ (ช่วงค่าตามมาตรฐาน, µg/mL)		
	CRO	CAZ	OFX
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	4(1-8)	8(4-16)	0.5(0.12-1)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.06(0.03-0.12)	0.25(0.06-0.5)	0.06(0.015-0.12)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	16(8-64)	2(1-4)	4(1-8)

ตารางที่ 2 การเจริญของแบคทีเรียในขวดเมื่อมีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ 100 และ 10 colony forming unit (CFU)

แบคทีเรีย	หลอด 100 CFU		หลอด 10 CFU	
	ปริมาณเชื้อที่	ให้ผลบวกหลัง	ปริมาณเชื้อ	ให้ผลบวก
	นับได้ (CFU/mL)	อบนาน (ชั่วโมง)	ที่นับได้ (CFU/mL)	หลังอบนาน (ชั่วโมง)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ND	21	ND	24
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	300	19	30	20
<i>viridans Streptococcus</i>	150	14	15	15
<i>Listeria monocytogenes</i>	ND	17	ND	19
<i>Escherichia coli</i>	150	11	15	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	600	15	60	17
<i>Haemophilus influenzae</i>	ND	40	ND	48
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	100	22	10	25
<i>Candida albicans</i>	700	26	70	*

* เครื่องไม่แสดงสัญญาณเตือนการเจริญของเชื้อ หลังอบนาน 7 วัน; ND, Not Done

ตารางที่ 3 การเจริญของแบคทีเรียในสภาวะที่มี และไม่มียา CRO, CAZ และ OFX*

เชื้อสายพันธุ์ มาตรฐาน ATCC (ปริมาณเชื้อตั้งต้นที่นับได้ CFU)	ให้ผลบวกหลังอบนาน (ชั่วโมง)			
	ไม่มียา	OFX	CRO	CAZ
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853(7×10^2)	16	16	17	30
<i>E. coli</i> ATCC 25922 (5×10^3)	9	9	9	66
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (3×10^3)	11	13	11	27

* CRO, ceftriaxone; CAZ, ceftazidime; OFX, ofloxacin

ผลการศึกษา

ปริมาณเชื้อตั้งต้นที่ปรับเทียบความขุ่นตามมาตรฐาน 0.5 McFarland เมื่อนับจำนวนเชื้อตั้งต้นที่ฉีดใส่ขวดที่เป็น “100 CFU” พบว่ามีจำนวนเชื้อจริงแตกต่างกันตั้งแต่ 100 - 700 CFU โดยพบว่าขวดที่มีเชื้อตั้งต้นประมาณ 100 CFU เครื่องสามารถตรวจพบการเจริญของเชื้อหลังอบนาน 11- 40 ชั่วโมง ดังในตารางที่ 2 ส่วนขวดที่เป็น “10 CFU” เนื่องจากปริมาณเชื้อตั้งต้นน้อยมาก การนับจำนวนจึงอาจคลาดเคลื่อนมากกว่าขวดตัวอย่าง “100 CFU”

ผลการศึกษาการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน 3 ชนิด ในขวดเพาะเชื้อที่มียาและไม่มียา พบว่าเชื้อมีการเจริญในขวดที่มียา CRO และ OFX ใช้เวลาใกล้เคียงกับขวดที่ไม่มียา ส่วนยา CAZ พบว่าเชื้อเจริญช้ากว่าขวดที่ไม่มียา โดยใช้เวลาประมาณ 2 เท่าขึ้นไป ดังในตารางที่ 3

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษากการเจริญของแบคทีเรียในขวดเพาะเชื้อจากเลือด ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นแตกต่างกัน 2 ขนาดคือประมาณ 100 และ 10 CFU พบว่าเครื่องเพาะเชื้อจากเลือดระบบอัตโนมัติ RENDER สามารถตรวจพบการเจริญของแบคทีเรียในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อได้แม้มีเชื้อตั้งต้นปริมาณน้อย โดยเชื้อแต่ละชนิดมีช่วงเวลาในวงจรรอบการแบ่งตัวที่ไม่เท่ากัน นอกจากนี้ ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อในขวดอาจเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแต่ละชนิดไม่เท่ากัน เครื่องจึงใช้เวลาในการตรวจพบเชื้อแต่ละชนิดไม่เท่ากัน

ส่วนขวดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมยาต้านจุลชีพพบว่า *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 และ *S. aureus* ATCC 29213 ในขวดที่ไม่มียา/มียา ส่วนใหญ่เชื้อสามารถเจริญได้ และให้ผลบวก แสดงว่า resin ในขวดสามารถดูดซับยาบางชนิดได้ดี ได้แก่ OFX และ CRO ซึ่งช่วยลดฤทธิ์ยาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ แสดงถึงประสิทธิภาพการดูดซับยาของ resin ในขวด และประสิทธิภาพของเครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ ยกเว้นยา CAZ พบว่าเชื้อส่วนใหญ่ใช้เวลาในการเจริญ

จนเครื่องสามารถตรวจวัดเชื้อได้ ยาวนานกว่าขวดที่ไม่มียา โดยเฉพาะเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 ซึ่งไวต่อยา CAZ มาก แสดงว่า resin อาจดูดซับยาได้ไม่สมบูรณ์ จึงพบว่ายายังคงมีประสิทธิภาพต่อเชื้อ ทำให้เชื้อใช้เวลาในการเจริญเติบโตนานกว่าปกติมาก

มีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเรซินในขวดเพาะเชื้อจากเลือดที่เดิมยา ซึ่งศึกษาด้วยยาหลายชนิด ได้แก่ vancomycin, cefoxitin, ceftriaxone, cefepime, piperacillin-tazobactam, ampicillin, oxacillin, gentamicin, และการผสมกันของ gentamicin /penicillin ได้แสดงผลการศึกษาว่าระบบ BacT/Alert FA สามารถพบเชื้อเจริญร้อยละ 25.1 และร้อยละ 95.1 จากขวดที่มียาและไม่มียา ส่วนระบบ BACTEC PLUS สามารถพบเชื้อเจริญร้อยละ 95.1 และร้อยละ 100 จากขวดที่มียาและไม่มียา นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการดูดซับยา vancomycin และ cefoxitin มีประสิทธิภาพแตกต่างกัน โดยมีการตรวจวัดปริมาณยาที่เหลือหลังจากใส่ยาในขวดและอบไว้ 1 ชั่วโมง พบว่าระบบ BacT/Alert ยังคงมียา vancomycin เหลือร้อยละ 72 - 90 และยา cefoxitin พบเหลือร้อยละ 71- 72 ส่วนระบบ BACTEC PLUS มียา vancomycin เหลือร้อยละ 0 - 30 และยา cefoxitin เหลือร้อยละ 0 แสดงว่าเรซินในขวดของแต่ละระบบอาจมีคุณสมบัติหรือประสิทธิภาพในการดูดซับยาแตกต่างกัน โดยระบบ BACTEC PLUS มีประสิทธิภาพดีกว่าระบบ BacT/Alert FA (12)

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องเพาะเชื้ออัตโนมัติ มีรายงานการศึกษาของ Demiray และคณะในปี ค.ศ. 2016 (13) ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพเครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ 3 ระบบคือ DL-Bt112TM (DL), BACTEC 9050TM (BCT) และระบบ BacT/Alert 3DTM (B3D) พบว่าระบบ BCT และระบบ B3D ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียได้รวดเร็วกว่าระบบ DL ทั้งในแบคทีเรียแกรมบวกทุกชนิดและแกรมลบเกือบทุกชนิด โดยระบบ BCT และ B3D ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันนัก แต่สำหรับเชื้อแกรมลบระบบ BCT ให้ผลที่ดีกว่าระบบ B3D ส่วนระบบ DL ใช้เวลาในการตรวจพบเชื้อในขวดนานกว่าเครื่องอีก 2 ระบบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p < 0.0001$) ในรายงานดังกล่าวพบว่าเครื่องระบบ BCT, B3D และ DL สามารถตรวจพบผลบวกของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่ใช้เชื้อเริ่มต้นเฉลี่ย 38 CFU ใช้เวลาอบนาน 15.9, 11.4 และ 17.7 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับผลการศึกษานี้ ที่พบเชื้อ *P. aeruginosa* เมื่อใช้เชื้อประมาณ 60 CFU ตรวจพบเชื้อหลังใช้เวลาอบนาน 17 ชั่วโมง ส่วนเชื้อแกรมบวกเช่น *S. epidermidis* เมื่อใช้เชื้อเริ่มต้นเฉลี่ย 18 CFU ระบบ BCT, B3D และ DL สามารถตรวจพบผลบวกหลังอบนาน 7, 12.9 และ 14.4 ชั่วโมง ตามลำดับ แต่ในการศึกษานี้ใช้เวลาอบนาน 24 ชั่วโมงเมื่อใช้เชื้อ *S. epidermidis* ตั้งต้นประมาณ 10 CFU การตรวจพบเชื้อได้ช้าหรือเร็ว ของระบบเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ มีอิทธิพลจากหลายปัจจัย ได้แก่ คุณสมบัติจำเพาะของเชื้อแต่ละชนิด แต่ละสายพันธุ์ ส่วนประกอบของอาหารและสิ่งแวดล้อม อาจมีส่วนกระตุ้นให้เชื้อมีขบวนการเมแทบอลิซึมที่แตกต่างกัน ทำให้มีอัตราการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่างกัน รวมถึงระบบและหลักการของเครื่องอัตโนมัติ ที่ทำการตรวจวัดผลผลิตของแบคทีเรีย จึงควรมีการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เพื่อช่วยส่งเสริมการตรวจพบเชื้อได้รวดเร็วที่สุด เพื่อประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยและควบคุมการแพร่เชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป ดังนั้นการพิจารณาเลือกใช้เครื่องเพาะเชื้อจากเลือดระบบอัตโนมัติ จึงควรคำนึงถึงประสิทธิภาพของเครื่องในการตรวจจับการเจริญของเชื้อ ร่วมกับการพิจารณาเรื่องราคาและงบประมาณ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น จึงใช้ชนิดและตัวอย่างเชื้อทดสอบจำนวนไม่มาก ซึ่งอาจไม่สามารถเป็นตัวแทนของเชื้อแต่ละชนิด นอกจากนี้ได้ทดสอบกับยาต้านจุลชีพเพียง 3 ชนิด จึงควรมีการศึกษาเพิ่มจำนวนตัวอย่างของเชื้อแต่ละชนิด เพื่อให้มีความหลากหลายของสายพันธุ์ และทดสอบกับยาชนิดอื่นเพิ่มเติมต่อไป

อย่างไรก็ตาม สามารถสรุปได้เบื้องต้นว่าเครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ RENDER มีประสิทธิภาพที่ดี ช่วยเพาะเชื้อจากเลือด ได้ผลรวดเร็ว และ resin ในขวดช่วยดูดซับยา เพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อ

ได้ สำหรับยาบางชนิดเท่านั้น ข้อมูลนี้จะเป็นประโยชน์เบื้องต้น สำหรับการนำไปใช้งานในห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลต่างๆ เพื่อช่วยเพาะเชื้อให้ได้ผลรวดเร็ว และเพิ่มโอกาสในการได้รับการรักษาที่ดีแก่ผู้ป่วย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัทเฟิร์มเมอร์ จำกัด ที่สนับสนุนขวดเพาะเชื้อและเครื่องเพาะเชื้อจากเลือดอัตโนมัติ RENDER และขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ และคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนทุนในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Kilgore M, Brossette S. Cost of bloodstream infections. Am J Infect Control 2008; 36: S172-e1-3.
2. Ramanathan R, Leavell P, Mays C, Duane TM. Impact of sepsis on surgical outcomes. Surg Infect (Larchmt) 2015; 16: 405-9.
3. Book M, Lehmann LE, Zhang X, Stüber F. Monitoring infection: from blood culture to polymerase chain reaction (PCR). Best Pract Res Clin Anaesthesiol 2013; 27: 279-88.
4. Paolucci M, Landini MP, Sambri V. Conventional and molecular techniques for the early diagnosis of bacteraemia. Int J Antimicrob Agents 2010; 36 (Supplement 2): S6-16.
5. Mirrett S, Reller LB, Petti CA, Woods CW, Vazirani B, Sivadas R, et al. Controlled clinical comparison of BacT/ALERT standard aerobic medium with BACTEC standard aerobic medium for culturing blood. J Clin Microbiol 2003; 41: 2391-4.

6. Elantamilan D, Lyngdoh VW, Khyriem AB, Rajbongshi J, Bora I, Devi ST, et al. Comparative evaluation of the role of single and multiple blood specimens in the outcome of blood cultures using BacT/ALERT 3D (automated) blood culture system in a tertiary care hospital. *Indian J Crit Care Med* 2016; 20: 530-3.
7. Weinstein MP, Mirrett S, Reimer LG, Wilson ML, Smith-Elekes S, Chuard CR, et al. Controlled evaluation of BacT/Alert standard aerobic and FAN aerobic blood culture bottles for detection of bacteremia and fungemia. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 978-81.
8. Wilson ML, Mirrett S, Meredith FT, Weinstein MP, Scotto V, Reller LB. Controlled clinical comparison of BACTEC plus an-aerobic/F to standard anaerobic/F as the anaerobic companion bottle to plus aerobic/F medium for culturing blood from adults. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 983-9.
9. Christenson JC, Relich RF. Laboratory Diagnosis of Infection Due to Bacteria, Fungi, Parasites, and Rickettsiae. In: *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases* (Fifth Edition), 2018 Sciendirect. [August 15, 2019]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/book/9780323401814/principles-and-practice-of-pediatric-infectious-diseases>
10. Spaargaren J, van Boven CPA, Voorn GP. Effectiveness of resins in neutralizing antibiotic activities in Bactec Plus Aerobic/F culture medium. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3731-3.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 25th informational supplement, M100-S25. 2015. CLSI, Wayne.
12. Demiray T, Koroglu M, Altindis M. Time-to-detection comparison for a novel blood culture system using simulated blood cultures: DLTM versus BacT/ALERTTM and BACTECTM. *Clin Lab* 2016; 62: 1595-600.
13. Flayhart D, Borek AP, Wakefield T, Dick J, Carroll KC. Comparison of BACTEC PLUS blood culture media to BacT/Alert FA blood culture media for detection of bacterial pathogens in samples containing therapeutic levels of antibiotics. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 816-21.